

参考文献

- 1 Iliakis G. *Bioessays*, 1991, 13(12) : 641—648
- 2 Olive PL. *Int J Radiat Biol*, 1992, 62(4) : 389—396
- 3 Chiu SM et al. *Radiat Res*, 1992, 129(2) : 184—191
- 4 Heussen C et al. *Radiat Res*, 1987, 110(1) : 84—94
- 5 Ljungman M et al. *Radiat Res*, 1991, 127(2) : 171—176
- 6 Ljungman M. *Radiat Res*, 1991, 126(1) : 58—64
- 7 Wartens RL et al. *Radiat Res*, 1992, 130(3) : 309—318
- 8 Zheng S et al. *Radiat Res*, 1988, 114(1) : 11—27
- 9 Cullis PM et al. *Nature*, 1987, 330(6150) : 773—774
- 10 Getzenberg RH et al. *J Cell Biochem*, 1991, 47(4) : 289—299
- 11 Vaughan ATM et al. *Cancer Res*, 1991, 51(14) : 3857—3861
- 12 Sweigert SE et al. *Radiat Res*, 1988, 116(2) : 228—244
- 13 Olive PL et al. *Cancer Res*, 1991, 51(17) : 4671—4676
- 14 Watt FM et al. *Trends Biochem Sci*, 1986, 11(11) : 482—485
- 15 Olive PL et al. *Radiat Res*, 1992, 130(2) : 241—248
- 16 Olive PL et al. *Exp Cell Res*, 1991, 193(2) : 339—345
- 17 Olive PL et al. *Radiat Res*, 1986, 107(1) : 115—124
- 18 Olive PL, *Radiat Res*, 1989, 117(1) : 79—92

不同性质辐射诱发DNA损伤的模型

Michalik V

摘要:描述了一种评估不同性质的辐射诱发不同DNA损伤的理论模型。模型没有严格区分直接与间接效应而是协同考虑的。计算出的初始双链断裂(DSB)产额与测量结果相一致。也研究了其它DNA多种与单一损伤。当辐射发生质的改变时,损伤的数量与质量都会发生改变。低LET辐射时,损伤中的多种损伤比例约为30%,随着电离密度的增加而大幅度上升。

径迹结构

电离辐射不同于其它DNA损伤试剂的性质,在于它能在几纳米范围内产生一群相邻损伤。辐射径迹结构的性质适于计算DNA损伤的产额,由Monte-Carlo粒子径迹模型,能获得大量有关能量积累的空间分布情况。Lappa提供了在单位密度水汽中带电粒子的运动径迹情况。K-平均值方法可分析电离的空间分布,将研究目标分类并将径迹结构分解成电离簇。使用这些方法,可以计算出射簇的绝对频率分布 $h(j)$,这个 $h(j)$ 是通过限制一个射簇的空间体积变量 P 而定义的。一个 j 阶的射簇可被理解为当两个属于同一个射簇的任意两个电离距

离 $\leq P$ 时,包含 j 个电离的空间区域。 F 或 $j=1$ 时,一个射簇包含1个电离,即一阶射簇。当 P 确定时,分布 $h(j)$ 表示由单位沉积能量引发、沿径迹产生的 j 阶射簇的平均值,且 $\sum_j jh(j) = W^{-1}$, W 为每次电离吸收的平均能量。

当以细胞灭活作为终点(针对细菌和单倍体酵母)的实验结果显示, P 的相关值为2~3nm,这样就给DNA双螺旋几何空间以直接的生物物理学解释。作者认为对于以DNA为靶的生物终点,比值是适宜的。当射簇变量为2nm时,分布值 $h(j)$ 是从足够数量不同能量的不同粒子径迹计算出来的,在每一个能量下, $h(j)$ 针对100个每个相当于5keV能量降低的长

度的径迹片段进行了计算,以达到统计学上的稳定性。结果显示, $j \geq 3$ 时,能量达到最高以前,射簇的数目随能量上升而增加,随后随能量上升而下降。在最高数目时, j 值越高,能量越低。这正好符合一个事实,即产生高度电离的低能粒子会更有效地产生高阶射簇。 $j=1$ 与 $j=2$ 时,没有发现数目减少。这时的各种能量是最有可能产生射簇的。

DNA 损伤——模型的建立

现有 DNA 损伤模型是基于 DNA 损伤的分布,其源于分子内及其周围电离事件的分布。电离空间分布不能被能量沿 DNA 链的长距离迁移所扰乱,原因是目前只有很少的关于这种迁移的直接证据,并且认为电荷在几个核苷酸中转移,不会改变损伤的分布。

间接作用所致损伤被认为是由 OH 基引发的。OH 基产生于含结合水的 DNA 分子周围的水化壳内,水化壳的厚度是几个 nm。在细胞中, DNA 部分地由此保护而防止游离基因的作用。而这种保护减少 OH 基在细胞环境中的寿命,它的半衰期是 10^{-6} s,相应 OH 基的游离距离为几个 nm。OH 基的产生,依赖于电离事件的密度,正如实验与理论预测显示,它能随电离密度增加而减少。OH 基在纯水中产生的时间为 $10^{-6} \sim 10^{-7}$ s,实验中,利用细胞环境模型(0.5 mol/L Tris)计算出的 OH 基产额近似于在纯水中产生的量,使用以上数据可估计 $G(m)$ [$G(m)$ 是当水中由一个射簇所形成的电离事件为 m 时,1 个电离形成 OH 基的几率]。未被其它基团或生物分子清除的 OH 基有 50% 的几率与 DNA 作用,与碱基作用几率是与糖作用的 4 倍。

直接作用所致损伤是源于能量在 DNA 分子中的直接沉积,并且碱基电离与糖—磷酸骨架电离的可能性是相同的,因为二者的电子密度是相同的。根据 Word 建议及实验证明,导致活性基团产生的电离与 OH 基攻击 DNA 产生的电离是等价的。

辐射后产生许多改变的碱基,其中某些碱

基损伤会导致糖—磷酸骨架断裂,此过程的效率估计为 10%。Symons 的结果表明 25% DNA 基团离子形成链断裂。

除碱基损伤外,直接电离或 OH 基攻击 DNA 还可以引发核酸链断裂,并在碱性条件下,在碱基不稳定部位发生损伤,导致链断裂。在受照 DNA 中,受损伤糖基的部位并不一定立刻导致链断裂,且每 2 个单链断裂形成 1 个碱基不稳定部位,这意味着只有一部分受损伤的糖基形成核苷酸链断裂,这个过程的效率为 0.67。如果由同一射簇($P=2\text{nm}$)形成的 2 个单链断裂在相对的链上,无论恰好相对或者只隔几个核苷酸,都能形成 DSB,形成 DSB 的两个 SSB 之间距离依赖于它们之间的氢键数目,一般认为小于 10 个碱基对,簇变量为 2nm 时,可形成 DSB,与以上设想相符合。

计算方法

计算 DNA 的损伤是根据诱发 j 次电离的射簇形成第 i 种损伤的几率 $Y_i(j)$ 。而这些几率的计算是根据对 DNA 大分子辐射机制的假设。

辐射径迹结构是根据射簇分布平均值 $h(j)$ 描述的。对于每种辐射,计算一个分离簇的几率。在这种情况下, j 次电离的分离簇形成第 i 种损伤的几率 $Y_i(j)$,将来源于所有射簇与 DNA 大分子可能的空间构象计算出的平均值。当该射簇为一束射簇中的一条时,几率用 $Y_i(j)$ 表示。

DNA 被看成直径为 2nm 的线型无限长圆柱。设有一诱发 j 次电离的射簇,在 DNA 外诱发 m 次电离,在 DNA 与射簇覆盖部分诱发 $j-m$ 次电离的几率为 $Pov(j,m)$,在射簇(由变量 P 为直径的球表示)中心距 DNA 轴 X 处,相覆盖的体积为 $V(x)$ 。如果射簇体积为 V_0 ,且具一定阶的射簇引发电离的分布是唯一的(同阶射簇 $h(j)$ 可以形成许多不同的分布),就满足公式: $Pov(j,m)=$

$$\frac{\int_{X_{\min}}^{X_{\max}} \binom{j}{m} (V(x)/V_0)^{j-m} \cdot (1-V(x)/V_0)^m dx}{\sum_{m=0}^j \int_{X_{\min}}^{X_{\max}} \binom{j}{m} (V(x)/V_0)^{j-m} \cdot (1-V(x)/V_0)^m dx}$$

在计算中, $X_{\min}=0, X_{\max}=2nm$.

在DNA周围发生 m 次电离时, 只有一部分产生与DNA发生作用的OH基。如果 ρ_{DNA} 代表未清除OH基与DNA反应的几率, $G(m)$ 为当DNA水化壳内的射簇具有 m 次电离时每次电离引发OH基的产率。 m 次电离导致 k 个OH基与DNA发生反应的几率为:

$$P_{OH}(m, k) = \sum_{l=k}^m \binom{m}{l} \binom{l}{k} G(m)^l (1-G(m))^{m-l} \times (\rho_{DNA})^k (1-\rho_{DNA})^{l-k} \quad (2)$$

假设DNA分子中发生 n 次电离, $S_1=S_2=0.25$ 为DNA分子中1次电离导致在第1(S_1)和第2(S_2)链上的糖-磷酸骨架发生损伤的几率。设 $b_1=b_2=0.25$ 为DNA分子中1次电离导致两条链上各自碱基损伤的几率, $\rho_{SSB}=0.67$ 代表损伤的糖骨架引发SSB的几率。 $\rho_{SD}=1-\rho_{SSB}, \rho_{SSB}=0.1$ 代表损伤碱基诱发SSB的几率, 且 $\rho_{BD}=1-\rho_{SSB}$, 于是满足公式:

$$\sum_{a=0}^n \sum_{b=0}^a \sum_{c=0}^b \binom{n}{a} \binom{a}{b} \binom{b}{c} [S_1(\rho_{SSB} + \rho_{SD})]^c \cdot [S_2(\rho_{SSB} + \rho_{SD})]^{b-c} \cdot [b_1(\rho_{SSB} + \rho_{BD})]^{a-b} \cdot [b_2(\rho_{SSB} + \rho_{BD})]^{a-a} = 1 \quad (3)$$

K 个OH基与DNA作用相同, 设 $S_{OH1}=S_{OH2}=0.1$ 为1个OH基引起糖-磷酸骨架在第一(S_{OH1})和第二(S_{OH2})链上导致损伤的几率, $b_{OH1}=b_{OH2}=0.4$ 代表1个OH基引起碱基损伤的几率, 其公式为:

$$\sum_{d=0}^k \sum_{e=0}^d \sum_{f=0}^e \binom{k}{d} \binom{d}{e} \binom{e}{f} (S_{OH1}(\rho_{SSB} + \rho_{SD}))^f \cdot (S_{OH1}(\rho_{SSB} + \rho_{SD}))^{e-f} \cdot (b_{OH1}(\rho_{SSB} + \rho_{BD}))^{d-e} \cdot (b_{OH2}(\rho_{SSB} + \rho_{BD}))^{k-d} = 1 \quad (4)$$

计算(3)与(4)式左侧, 可以得到计算损伤的基本表达式, 由此, 筛选出所有特定损伤的组分, 且定义几率 $P_i(nk)$ 为由一射簇在DNA分子内诱发的 n 次电离和 k 个OH基与DNA分

子作用形成第 i 种损伤的几率。

第 j 阶分离簇形成第 i 种损伤的几率为:

$$Y_{i(j)} = \sum_{m=0}^j \sum_{k=0}^m P_{OV}(j, m) P_{OH}(m, k) P_i(j-m, k) \quad (5)$$

当一射簇为一束射簇中一条时, 就应考虑不同射簇之间的关系。这种情况会使计算相当复杂, 而此时OH基的产额不会很高, 可以不必考虑在内。当一射簇与DNA重叠, 总有一部分电离发生在此重叠部分之外, 但原则上它总会被相邻射簇的电离所补充, 于是, 可以有以下近似公式:

$$Y_i(j) = P_i(j, 0) \quad (6)$$

设 N_i 为单位沉积能量诱发第 i 种损伤的产额, 则:

$$N_i = \sum_j h(j) [\alpha(j)^1 Y_i(j) + (1-\alpha(j))^2 Y_i(j)] \quad (7)$$

结果与讨论

实验计算了由LET值达几百 $keV/\mu m$ 的不同类型的射线、电子和重离子引起的各种单一与多重损伤, 并将得到的DSB和SSB的初始发生率与理论计算及其它模型作了比较。实验使用中性蔗糖梯度法测定二倍体野生型酵母、Ehrlich腹水癌细胞和V79中国仓鼠细胞中的DSB、X射线和 γ 射线实验数据与单能电子辐射进行比较, 由 ^{241}Am 源获得的试验数据与3.5MeV α 粒子计算值进行比较, 发现在模型与实验数据间存在相当令人满意的一致性。但不同实验之间, 尤其是低LET部分, 仍存在很大差异, 因此很难比较不同实验DNA链断裂的产额。但根据不同作者发表的数据计算出的DSB/SSB的比例变化很小。

实验研究了三种形式的损伤: 单一损伤、同一链上多重损伤、相对链上多重损伤。单一损伤包括SSB, 碱基损伤和不能导致核苷酸链碱基不稳定部位断裂的糖损伤。由不同的单一损伤对LET作曲线, 发现三种损伤, 特别是在低LET区域, 性质是近似的。由于多重损伤的比例较高, 单一损伤的产额随电离密度的增加而降低。

一条链上的多点损伤会导致链断裂,伴有额外的碱基和糖损伤。多点的糖和碱基改变及多个链断裂会导致几个核苷酸丢失。一条 DNA 链上的复合损伤是很重要的,例如对细菌中的 SOS 的诱导。以此损伤对 LET 作曲线,首先出现坪台,然后随 LET 升高到数十 $\text{keV}/\mu\text{m}$ 而达到最高点,导致多重链断裂的最高值为稍高一些的 $60\sim 70\text{keV}/\mu\text{m}$ 。LET 进一步升高使产额下降, $100\text{keV}/\mu\text{m}$ 左右的高 LET 诱发损伤与同一链上产生的多重损伤略有差别。

从生物学观点,最有意义的是那些包括 DNA 双链的损伤。如 DSB、糖与碱基的多点损伤以及伴随相对链损伤的链断裂。辐射诱发 DSB 是导致细胞灭绝的重要因素,因碱基损伤可以导致氢键的打开,随后在这个位点上, DNA 可被 S_1 核酸酶分裂成 DSB。一些相对链上的损伤为潜在的突变诱发因素,并在修复过程中导致突变。不同的损伤由不同 LET 引起。多重碱基、糖的改变与多重链断裂相似,在低 LET 区域有最高产额,双链断裂在 $100\sim 200\text{keV}/\mu\text{m}$ 范围有最高产额。

径迹结构改变时,多重损伤与单一损伤的比例会有很大变化。对于低 LET 辐射如 γ 射线,比例为 1:2。这反映了大部分能量是通过低能电子沉积下来的,低能电子在 nm 空间内形成射簇是很有效的。LET 为 $150\text{keV}/\mu\text{m}$ 的 He 离子,随电离密度增加,该比例升高到 3.5。 $E\leq 1\text{MeV}/\mu\text{m}$ 的低能 He 离子所产生的 δ 射线最大能量小于 2keV ,初始电离密度为每 nm 高于 2 次电离,这意味着非常有效地产生了包含许多电离的射簇。相同 LET 的 C 离子,由于径迹结构的不同,该比例要小得多。很明显,由高 LET 辐射引起的多重损伤谱有一个性质

上的改变,即电离密度越高,诱发的多种损伤中,包含的单一损伤就越多。

与上述模型比较,Charlton 等的模型没有考虑间接效应所致损伤,且计算出的 DSB 产额比实验结果高得多,Chatterjee 等的方法又忽略了直接电离与活性基团的相互作用,而本方法使用了一种不同的 DNA 模型,用不同的方法计算了 Monte-Carlo 径迹,用一种不同的方式处理 OH 基的作用,且包含了更多形式的 DNA 损伤。

结 论

本文提出的模型可以计算由不同性质辐射引起的各种损伤的初始产额,模型建立在辐射径迹结构及 DNA 性质的有关理论的基础上,并根据实验提供的数据和 DNA 分子内及环境辐射后的情况,将能量沉积的物理阶段与随后的物理化学、化学阶段联系起来。模型没有严格区分直接与间接的辐射作用,但包含了直接电离与 OH 基攻击的协同作用。

模型没有使用任何可调节的自由变量,但使用了一些从文献数据得出的隐含变量。预期的 DSB 产额与实验相符合,证实了模型的可信性。在低剂量范围内,径迹的重迭是可以忽略的,能量沉积的空间分布由单一径迹决定。

一个 DNA 分子损伤谱可被划分为几类,导致不同的结果。实验表明,辐射性质的改变引起分子损伤谱在质量和数量上的改变。在稀疏电离辐射区,多重 DNA 损伤占整个损伤谱约 30%,当电离密度增加,多重损伤几率上升。对于密电离辐射,只有一小部分损伤是单一 DNA 损伤。

[Int J Radiat Biol 1992;62(1):9~20,

(英文) 金虎林节译 穆传杰校]